Aus dem Robert Koch-Institut
(Institutsleiter: Prof. Dr. med. G. Henneberg)
Abteilung für Serologie
(Abteilungsleiter: Prof. Dr. med. W Maassen)

Experimentelle Untersuchungen zur Frage der Vermehrung von Plasmodium berghei in Erythroblasten junger Rattenembryonen

Ein Beitrag zur congenitalen Malaria

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der Medizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin

1965

Vorgelegt von

Oguejiofor Nwankwo

Iboi / Nigeria

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546516_0017

Aus dem Robert Koch-Institut
(Institutsleiter: Prof. Dr. med. G. Henneberg)
Abteilung für Serologie
(Abteilungsleiter: Prof. Dr. med. W Maassen)

Experimentelle Untersuchungen zur Frage der Vermehrung von Plasmodium berghei in Erythroblasten junger Rattenembryonen

Ein Beitrag zur congenitalen Malaria

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der Medizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin

Vorgelegt von

Oguejiofor Nwankwo

Aba / Nigeria

Dekan: Professor Dr.med. Adalbert Loeschke

Referent: Professor Dr.med. Willy Maassen

Korreferent: Professor Dr.med. Bernh. Schmidt

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 15. JULI 1965

Inhaltsverzeichnis

A Einleitung

I. Bemerkung zur historischen Erforschung der congenitalen Malaria

II. Die Theorien der Transplazentarübertragung

B Experimenteller Teil

I. Material und Methodik

1. Versuchsmaterial

2. Versuchsmethode

3. Narkose-Technik

4. Operationstechnik

5. Färbungstechnik

II. Versuchsergebnisse

III. Besprechung der Ergebnisse

C Zusammenfassung

D Literatur

A Einleitung

I. Bemerkung zur historischen Erforschung der congenitalen Malaria.

Das Problem der congenitalen Malaria war seit vielen Jahren ein Diskussionsthema. THOMAS (1886) zitierte Fälle, die von DINSTIL, SCHRAMM, DUSCHEK und PLAYFAIR als typische Beispiele von Transplazentarübertragungen registriert wurden. BOHN (1873) hatte außer diesen auch noch einen Fall, der von STEINER beschrieben worden ist, erwähnt. DUSCHEK beschrieb einen Fall, bei dem ein Kind einer malariainfizierten Mutter 3 Stunden nach der Geburt starb. Bei der Sektion fand man Malariapigmente in der vergrößerten Milz und in der Pfortader. BOHN's Fall war eine Frühgeburt. Das Kind starb, und die congenitale Malariainfektion galt als bewiesen. Diese zwei Fälle scheinen doch, kritisch gesehen, echte congenitale Malariainfektionen gewesen zu sein. Leon HITTE (1902) hatte eine Arbeit über dieses Thema geschrieben. Er hatte auf zwei persönliche Erlebnisse in Algerien, bei denen Malariaparasiten im Nabelblut vorhanden waren, und auf 19 Fälle anderer Berichte hingewiesen. Diese Arbeit, zusammen mit Berichten von anderen Wissenschaftlern, hat BEEKEL (1910) gründlich analysiert und er kam zum Ergebnis, daß mindestens 11 Fälle echte congenitale Malariainfektionen waren. Diese schliessen HITTE's zwei persönliche Beobachtungen, zwei von DUSCHEK und BOHN (von HITTE auch zitiert), einen Fall von CRANDALL (1893) und sechs Fälle, die von ECONOMOS (1907)

berichtet wurden, ein. BEEKEL hat daraus geschlossen, daß die Übertragung der congenitalen Malaria möglich sei, entweder durch Mutter- und Fetalblutmischung bei der Geburt oder durch irgendeine pathologische Plazentaschädigung. Er betrachtete jedoch solche Ereignisse als seltene Geschehnisse. Daß es congenitale Malaria gibt, war allgemein von den älteren Verfassern akzeptiert worden, da sie keinen Grund zu zweifeln hatten. Mit der Entdeckung der Malariaparasiten von LAVERAN (1880) wurden sie skeptischer, da Parasiten weder in Fe talblut noch auf der fetalen Fläche der Plazenta entdeckt worden waren, obwohl das mütterliche Blut positiv war. Sie sahen daher keinen Grund anzunehmen, daß es eine Diaplazentarübertragung gebe. PEZOPOULOS und CARDAMATIS (1907) schlossen sich dieser Ansicht aufgrund ihrer Arbeiten in Griechenland an, obwohl sie in einem von 6 Fällen, die sie untersuchten, mit sehr großer Mühe zwei Parasiten in einem Blutausstrich der Fetalfläche der Plazenta fanden. Die meisten Autoren waren aber mit den bisherigen Ergebnissen nicht zufrieden, und es wurde lange Zeit über dieses Thema diskutiert, besonders in Italien. SABELLA (1911) hatte eine Arbeit darüber geschrieben, in der er 26 Autoren zitierte, und er gab seiner Überzeugung Ausdruck, daß es keine Transplazentarübertragung gab. Seitdem erschienen in der medizinischen Literatur Schriften über Beobachtungen echter congenitaler Malaria. In vielen Fällen waren Parasiten sogar im Peripherblutausstrich des Kindes gefunden worden, entweder unmittelbar nach der Geburt oder noch vor Ablauf der Inkubationszeit. In anderen Fällen waren Parasiten in Gehirn-, Leber-,

Milz- oder Herzblut des Fetus nachweisbar (PERVES 1943).

Beobachtungen congenitaler Malariainfektion sind sowohl in Gebieten, in denen Malaria endemisch ist, als auch bei isolierten Fällen in nicht endemischen Gebieten gemacht worden. PEZOPOULOS und CARDAMATIS (1907) wiesen in ihrer Arbeit in Macedonien darauf hin, daß eine massive Infektion der Plazenta bestand, obwohl nur einige Parasiten im Peripherblut der Mutter vorhanden waren. Diese Befunde waren von CLARK (1915) in einer Arbeit an 400 Schwangeren in Panama bestätigt worden. Nur 8 davon hatten Parasiten im Peripherblut. Nur in einem Fall sind Parasiten auch im Nabelblut des Kindes aufgefunden worden. Dieses, schrieb er, war Folge eines Plazentatraumas. Er bemerkte hierzu, daß die Plazenta sehr günstige Bedingungen für die Entwicklung der Parasiten bietet. S.T.DARLING fand bei einer Punktion an vielen Leichen sofort nach dem Tode höhere Temperatur im Uterus, in Milz und Leber als in Mund, Brustraum und Rectum. THONNARD und NEUMANN (1932) berichteten über die in Panama im Jahre 1928 gemachten Untersuchungen, bei denen in 20 % der untersuchten Fälle die Plazenta infiziert war, während der Erreger im peripheren Blut nur in 5 % der Fälle nachweisbar war.

BLACKLOCK und GORDON (1925) führten in Sierra Leone ausführliche Untersuchungen auf pathologische Veränderungen der Plazenta bei maligner Tertiana und über die Verhältnisse der Malaria während der Geburt und beim Säugling durch. Sie untersuchten 173 schwangere Frauen, 9 davon hatten P. faleiparum und 3 pigmentierte Leukozyten im

Peripherblut. 155 Plazenten waren untersucht worden, davon waren 59 (38 %) positiv. Obwohl die villösen Räume massiv infiziert waren, fanden sie weder innerhalb der Zottengefäße noch im Peripherblut des Säuglings Parasiten. Ein interessanter Fall war der von Binovularzwillingen mit getrennten Plazenten. Eine Plazenta zusammen mit der Nabelschnur war sehr anämisch und enthielt viele Parasiten. Zeichen von erheblichem Erythrozytenzerfall waren deutlich zu sehen. Das Kind starb innerhalb 15 Stunden nach der Geburt. Das andere Kind blieb während des Krankenhausaufenthaltes von 7 Tagen gesund. Viele Arbeiten sind seitdem veröffentlicht worden, und mit Ausnahme von PERVES (1943), der in Kamerun eine Infektion von 9,6 % berichtete, bemerkten alle Verfasser, daß congenitale Malaria bei der einheimischen Bevölkerung des endemischen Gebietes eine Seltenheit ist.

DALEAS und LAVERGNE (1936) untersuchten in Indochina 887 Geburtsfälle. Sie fanden kaum Parasiten im Peripherblut der Kinder; HENRY's Melano-Flockulationstest war aber bei 28 Säuglingen positiv. Sie schlossen daraus, daß die congenitale Malaria in Indochina nicht selten war. ENGLISH (1946) untersuchte 241 Fälle malariainfizierter Mütter; er fand nur einen Fall (eine Europäerin), bei dem Parasiten im Peripherblut des Kindes vorhanden war. Es gibt einige Hinweise, daß congenitale Malaria auch nicht selten in vielen Gebieten Ost-Europas ist. Nach einem Bericht der "Leagne of Nations Malaria Commission" (SWELLENGREBEL 1925) wurden 40 Fälle congenitaler Malaria in Skradin, Dabnatier und 8 Fälle in Persianowka am Don beobachtet. In allen

Fällen wurden Parasiten bei Säuglingen innerhalb von 5 Tagen nach der Geburt gefunden. WESELKO (1926) zitierte 14 Fälle aus Albanien, bei denen Parasiten sowohl im Peripherblut der Mutter als auch des Kindes innerhalb von 5 Tagen nach der Geburt entdeckt worden waren. LJACHOWETSKY (1927) berichtete über mehrere hundert congenitale Malariafälle in Grimea und Lopatin (1940), von 15 P. vivax, 10 P. falciparum und 8 P. malaria Fällen in Kuibyschev. In keinem Fall war das Prozentverhältnis angegeben. Auch von Plazentainfektionen ist berichtet worden.

An isolierten Fällen in nicht endemischen Gebieten wurden 135 beobachtet, und einige davon sind von besonderem Interesse. BEEKEL (1910) berichtete von einem Fall in den U.S.A. Die Eltern stammten aus Ungarn, und die Mutter hatte Malaria im jugendlichen Alter durchgemacht, hatte aber seit mehreren Jahren keinen Rückfall mehr gehabt. Das Kind war in Cleveland, Ohio, geboren und nach 10 Wochen mit einer Anamnese von drei Wochen Fieber ins Krankenhaus gebracht worden. Es war anämisch, hatte Spleno- und Hepatomegalie. Viele Quartanaparasiten waren im Peripherblut gefunden worden. Die Mutter hatte auch eine Splenomegalie, aber keine Parasiten im Blut. Cleveland ist als malariafreies Gebiet der U.S.A. bekannt. FORBES berichtete von einem weiteren Fall, auch in den U.S.A. Die Eltern waren 5 Jahre vor der Geburt des Kindes aus Griechenland eingewandert. Die Mutter hatte Malaria gehabt, war aber seit 4 3/4 Jahren rückfallfrei. Mit 7 Wochen entwickelte das Kind in Colorado Fieber. Es zeigte eine Anämie, Splenomegalie und Quartanaparasiten im Blut. Die Mutter war auch

Quartana-positiv, hatte aber keine Splenomegalie und kein Fieber. Es gibt keine Anopheles in Colorado, und damit ist die Möglichkeit der Mückenübertragung der Krankheit sicherlich ausgeschlossen. TANNER und HEWLETT (1935) beobachteten einen interessanten Fall. Eine englische Frau heiratete einen Bengali. Sie hatte Malaria während der Schwangerschaft, bevor sie nach England im September 1934 zurückfuhr. Im Januar bekam sie Binovularzwillinge; der zweite Zwilling wurde 50 Tage später mit erheblicher Splenomegalie, Anämie und benignen Tertianaparasiten im Peripherblut ins Krankenhaus aufgenommen. Der erste Zwilling blieb gesund. Einige Andeutungen über massive Plazentarinfektion in diesen nicht endemischen Gebieten sind auch von anderen gemacht worden (YORKE und MURGATROYD 1931).

II. Die Theorien der Transplazentarübertragung

Obwohl die Tatsache, daß congenitale Malaria vorkommen kann, nicht mehr eine Streitfrage ist, bleibt immerhin der Mechanismus der Übertragung von der Mutter auf das Kind, wie vor 40 Jahren, eine noch nicht vollkommen geklärte Angelegenheit. Es wird allgemein anerkannt, daß die Plazentarschranke in manchen Fällen nachgibt und den Parasitendurchgang erlaubt. Wie dieses zustande kommt, darüber gibt es viele abweichende Meinungen. Einige meinten, es sei verwunderlich, daß so wenige Fälle von congenitaler Malaria vorkommen, da in den letzten Tagen der Schwangerschaft die ursprüngliche Epithelschicht der Zotten schwächer wird und schließlich nur eine dünne Syncytialschicht von Zellen, die das Fetalblut von dem mütter-

lichen Blut trennen, übrig bleibt. GREEN und ARMYTAGE sahen deswegen in der infizierten Plazenta ein großes Risiko für das Kind, nicht nur wegen der Schwächlichkeit des entarteten Syncytiums, sondern auch wegen eines möglichen Traumas (während der Geburt oder bei Toxämie), das eine Verletzung der Ektodermalschicht hervorrufen könnte.

Trotz der anscheinenden Verwundbarkeit der Plazentarschranke ist die Tatsache, daß es eine massive Infektion der Plazenta ohne nachweisbare Parasiten im Blut der Nabelschnur gibt, doch ein zweifelsfreier Beweis dafür, daß die Zottenwand einen sicheren Schutz bietet. Dies wurde auch nachdrücklich von PENNATO (1921) betont, der über einen Fall von Quecksilbervergiftung bei einer Frau berichtete, deren Kind aber nicht geschädigt war. Er bemerkte, daß auch Lues nicht durch die Plazenta übertragbar sei, wenn die Infektion der Mutter in den letzten zwei Monaten der Schwangerschaft stattfand.

Die früher behauptete Möglichkeit einer Erythrozytendurchwanderung der Plazentarschranke ist ausgeschlossen, obwohl infizierte sowohl wie malariapigmentierte Erythrozyten in der infizierten Plazenta zu finden sind, hat man diese in keinem Fall im Fetalblut (BLACKLOCK und GORDON 1925) gefunden. Auch bei Leukämie (CAMERON 1888-1890), bei der die Leukozytenzahl im mütterlichen Blut erheblich gesteigert ist, ist das kindliche Blut vollkommen normal.

Im Hinblick auf die zweifellos vorhandene Wirksamkeit der Plazentarschranke und die Seltenheit congenitaler Malaria, sogar, wenn die Plazenta massiv infiziert ist, nehmen viele

Verfasser an, daß die mechanische Plazentaverletzung einen wichtigen Vorläufer der Malariaübertragung darstellt (Van NITSEN 1932). Sie behaupten, daß die Plazentarschranke die Parasitendurchwanderung verhütet, während kleine Infarkte oder Kapillardurchlässigkeiten die Überwindung dieses Hindernisses veranlassen könnten.

WICKRAMASURIYA (1937) lehnte diese Theorie ab, da er bei seinen 5 zweifelsfreien Fällen congenitaler Malaria keine makroskopische Verletzung der Plazenta beobachtet hatte, und er schloß, daß die Verletzung von anderer Art sein müsse. Er behauptete dann, daß die massive Infektion und die hohe Temperatur, die sie erzeugt, pathologische Veränderungen in der Plazentawand hervorruft, die die Durchlässigkeit bedingen. Er gab zu, daß, wenn Wehen unerwartet eintreten, die Uteruskontraktion mehr und mehr Parasiten im Fetalkreislauf einpressen könnte, wenn einmal ein Bruch in der Plazenta entstanden ist. Weiter meinte er aber, daß, da bei seinen zwei Beobachtungen die Mutter und der Foet starben, bevor Wehen eintraten, dieses kein notwendiger Faktor für die Übertragung sei. PIK GING HOO (1941) schloß sich dieser Theorie an.

Van LAWICK und van PABST (1949) gingen eine Stufe weiter. Da bei solch einer Verletzung Fibrin um die Zotten gebildet werden soll, wird die Verbindung verstopft und der Übertritt des mütterlichen Blutes verhindert. Sie machten dann zwei Vorschläge: (1) Die erythrozytäre Form der Parasiten könnte in die Zotten eindringen. (2) Die Sporozoiten könnten dasselbe tun.

Viele Verfasser, z.B. SCHWETZ (1939) behaupten, daß eine fieberhafte Malaria während der Schwangerschaft nötig sei für die Durchwanderung der Parasiten, da die Durchlässigkeit der Plazenta gesteigert wird. Dagegen aber sprechen viele Beobachtungen, die ohne aktive Malaria vorgekommen sind (BEEKEL 1910, FORBES 1923).

GUPTA (1939) schloß aus seinen Versuchen an trächtigen Rhesusaffen mit P. knowlesi und seiner Beobachtung an einer schwangeren Frau mit chronischer Malaria, daß nicht die Intensität, sondern die chronische Infektion eine entscheidende Rolle bei der Übertragung spielt. Der Meinung von ASCIONE und MARIOTTI, daß Merozoiten durch die Plazentarschranke filtriert werden könnten, um Malaria im Fet zu erzeugen, erhielt keine Unterstützung von anderen Verfassern.

Erst nach der Entdeckung der Säugetier-Malariaart Plasmodium berghei von VINCKE und LIPS (1948) war es möglich, auf diese Probleme rein experimentell einzugehen. FABIANI und Mitarbeiter (1951) untersuchten die Feten von 6 Mäuse- und 3 Rattenweibchen, die sie während der Trächtigkeit mit P. berghei infiziert hatten. 2 Feten und das Herzblut von 2 Jungtieren waren Parasiten-positiv. BRUCE und CHWATT (1954) experimentierten mit 32 Würfen von infizierten Mäuse- und Rattenweibchen. Pigmentierung war nur in der Leber der 2 Fehlgeburten entdeckt worden. Sie erklärten, daß die Plazenta von den Parasiten nicht durchbrochen werden kann. Auch WERNER, H. (1956) demonstrierte, daß die erythrozytäre Form der Malariaparasiten nicht fähig ist, eine unversehrte embryonale Membran aktiv zu durchdringen. Er hatte weibliche

Mäuse und Hamster vor und nach der Paarung in verschiedenen Stadien der Trächtigkeit mit P.berghei infiziert. In seinen mikroskopischen und kulturellen Untersuchungen an 171 lebend geborenen Ratten und 14 Totgeburten stellte er fest, daß in keinem Fall ein begründeter Befund von congenitaler Malaria zu erheben war. KUNERT und WERNER (1957) verwendeten Euphyllin, um den Schutzmechanismus der Plazentarschranke der trächtigen Mäuse zu schädigen. Die Mäuse wurden dann mit 8 - 10 Millionen Parasiten von P. berghei intraperitoneal infiziert. Der Nachweis von Parasiten in 12 Feten und 7 jungen Mäusen bei insgesamt 136 Untersuchungen war ein deutlicher Beweis für das Vorkommen congenitaler Malaria, wenn die Plazentarschranke verletzt war. Die Schädigung findet ihren Ausdruck in gequollenen Zellen und Vakuolisierung des Syncytiums. Der Überblick über die Berichte, die vor uns liegen, zeigt, daß keine von den angegebenen Theorien zur Erklärung der Malariaübertragung von der Mutter auf das Kind ausreicht. Congenitale Malaria kommt sicherlich ohne deutliche Verletzung der Plazenta wie auch bei Abwesenheit einer aktiven Malaria während der Schwangerschaft vor. Die Auffassung, daß die Parasiten in der exo-erythrozytären Phase die Plazentarschranke durchdringen können, ist noch nicht erwiesen. Die glaubhafte Erklärung wäre, daß die Übertragung durch eine pathologische Veränderung der Plazenta bei einer Malariainfektion eintritt. Der Mechanismus, wodurch sie geschieht und warum sie in manchen Fällen vorkommen kann, in anderen nicht, bleibt noch ungeklärt.

B. Experimenteller Teil

Meine Arbeit geht von der Voraussetzung aus, daß eine congenitale Malariainfektion möglich ist, ohne daß wir den Mechanismus kennen, und versucht darzustellen, wann während des Schwangerschaftsverlaufs solch eine Infektion frühestens auftreten kann. Es ist bekannt, daß die Erythrozyten eine Voraussetzung für das Wachstum der Malariaparasiten im Blut sind. Die Erythrozyten sind aber nicht vom Beginn der Schwangerschaft an im Fetalkreislauf vorhanden. Aus diesem Grunde habe ich versucht, die Erythroblasten und die Normoblasten, die Vorstufe der Erythrozyten, experimentell zu infizieren, um festzustellen, ob eine congenitale Malaria schon im Frühstadium der Schwangerschaft denkbar ist, d.h. zu einem Zeitpunkt, an dem noch keine jugendlichen Erythrozyten in der Frucht ausgebildet sind.

I. Material und Methodik

1. Versuchsmaterial

Als Versuchsobjekt dienten hauptsächlich weibliche weiße Laboratoriumsratten. Sie sind für die Versuche besonders gut geeignet, da bekannt ist, daß P. berghei in ihnen züchtbar ist. Außerdem ist dieses Tier viel größer als die weiße Laboratoriumsmaus und bietet deswegen den Vorteil, größere Organe untersuchen zu können, die bei Experimenten leichter zu handhaben sind. Laboratoriumsmäuse wurden verwendet, um P. berghei fortzuzüchten, da sie wirtschaftlich gesehen, billiger sind. Andere Malariaplasmoiden sind in Versuchstieren, mit Ausnahme einiger Affenarten, nicht züchtbar.

2. Versuchsmethode

Eine Ampulle des bei -70°C aufbewahrten Ausgangsstammes (P.berghei in mit 15 % Glyzerin versetztem Blut) wurde aufgetaut und geöffnet. Dann wurde 1 Maus mit o,5 ml intraperitoneal infiziert. Nach 8 Tagen enthielt das aus dem Schwanz entnommene Blut der Maus massenhaft P.berghei. Das Tier wurde entblutet. 8 Tropfen des Blutes wurden in ca. 4 ml Kochsalzlösung aufgefangen. Mit dieser Aufschwemmung wurden die Feten der Versuchsratten infiziert. Weibliche Ratten wurden mit männlichen Tieren zusammengesetzt. Nach 6 Tagen wurden die weiblichen Ratten auf Trächtigkeit untersucht. Die trächtigen Tiere wurden anschließend narkotisiert, der Bauch wurde geöffnet, und mit je ca. o,1 ml der obigen P.berghei-Aufschwemmung wurden die Feten infiziert, meistens die Feten im rechten Uterushorn. Der Bauch wurde wieder geschlossen und die Tiere weiter am Leben gelassen. Die Injektion wurde entweder direkt in die Feten oder durch die Plazenta hindurch vorgenommen.

Es wurden Feten verschiedenen Alters infiziert, und im Durchschnitt 4 Tage später wurden die Versuchstiere getötet. Ausstriche von Feten und Plazenta wurden hergestellt, gefärbt und mikroskopisch untersucht.

3. Narkose-Technik

Nembutal (Abbott Laboratories Ltd. London) ist meistens verwendet worden. Jedes Tier wurde gewogen, dann wurde 1 ccm Nembutal pro 5 englische Pfund Körpergewicht gespritzt. Nach 3 - 5 Minuten schliefen die Tiere ein. Wenn die

Nembutalmenge nicht ausreichte, wurde mit Äther zusätzlich narkotisiert, um eine tiefe Narkose zu erzeugen. In einigen Fällen wurde überdosiert. In diesen Fällen wurden 0,5 ccm Cardiazol oder 0,5 ccm Sympatol oder beides zusammen nachgespritzt.

4. Operationstechnik

Die Bauchhaut der Tiere wurde rasiert, mit Jod bepinselt und der Bauchraum wurde mit sterilen Instrumenten geöffnet und der Uterus mit den Feten herausgezogen. Nach Injektion der Erreger in die Feten wurde die Wunde mit Klammern verschlossen.

5. Färbungstechnik

Die Ausstriche wurden luftgetrocknet, 10 Minuten in Methylalkohol fixiert, wieder luftgetrocknet und mit Azur II-Eosinfarblösung nach Romanowsky folgender Zusammensetzung 1 Stunde lang bei Zimmertemperatur gefärbt:

1 ccm einer 1 %igen Stammlösung von Eosin B.A. extra Hoechst wird in 80 ccm Aqua dest. (pH 6,8) einpipettiert, nach gründlichem Ausspülen der Pipette werden 10 ccm einer 0,16 %igen Azur II-Stammlösung dazugegeben und das Ganze sorgfältig gemischt. Die Farblösung wird sofort in eine Küvette gegeben, die Objektträger hineingestellt, nach Beendigung der Färbung mit Leitungswasser abgespült und luftgetrocknet.

II. Versuchsergebnisse

Die Ergebnisse der Versuche sind in den Tabellen 1 und 2

dargestellt. 39 Laboratoriumsrattenweibchen wurden insgesamt in den Versuch genommen. Es wurden Feten verschiedenen Alters infiziert: Die Tabellen 1 und 2 zeigen, daß die Trächtigkeitsperiode bei den Ratten durchschnittlich 21 Tage betrug.

Im rechten Uterushorn wurden insgesamt 119 Feten und an den nicht infizierten Seiten (linkes Uterushorn) 106 Feten festgestellt. Die Verschiedenheiten der Tötungszeiten verfolgen das Ziel, den Zeitpunkt der frühestmöglichen Infektion der Erythroblasten festzustellen. Die Infektionszeit des P. berghei in den Rattenembryonen betrug durchschnittlich 4 Tage. Zur Kontrolle dieser Beobachtung wurden einige Ratten schon am 3. Tag nach der Infektion getötet. In einigen Fällen, in denen die Feten noch zu klein waren, wurden die Ratten schon am 2. Tag nach der berghei-Infektion getötet. 104 Feten wurden insgesamt mit P.berghei infiziert. Daß einige Ratten vor Ablauf der Untersuchungen gestorben sind, wie es in Tabelle 1 unter "Bemerkungen" angedeutet worden ist, war Folge unbekannter Ursache (siehe Tier Nr.35 (lfd.Nr. 30) und 31 (lfd.Nr. 37)). Die Malaria-Infektion hat auch manche Feten mazeriert (siehe Tier Nr.3 (lfd.Nr. 3), 22 (lfd.Nr. 10), 34 (lfd.Nr. 14), 25 (lfd.Nr. 15), 13 (lfd.Nr.19), 14 (lfd.Nr. 22), 26 (lfd.Nr. 24), 36 (lfd.Nr. 29) und 27 (lfd.Nr. 34)). In den Fällen, in denen es möglich war, wurden trotzdem Ausstriche von den mazerierten Feten angefertigt. Bei den Feten der Ratte Nr. 17 (lfd.Nr. 16) ist es zum Wachstumsstillstand gekommen. Ferner war es nicht mehr möglich, Ausstriche bei den Feten der

Ratten Nr. 5 (lfd.Nr. 5) und 23 (lfd.Nr. 21) zu machen, da die Mütter die Würfe sofort nach der Geburt aufgefressen hatten.

Wie bei der Narkosetechnik beschrieben worden ist, wurden Cardiazol und Sympatol, in den Fällen, wo die Narkose zu stark war, gespritzt. Bei der Ratte Nr. 6 (lfd.Nr. 4) ist es mir so gelungen, das Tier zu retten. Ratten Nr. 7 (lfd.Nr. 8) und 8 (lfd.Nr. 9) sind aber trotzdem gestorben. Die Ratten Nr. 15 (lfd.Nr.25) 16 (lfd.Nr. 31), 10 (lfd.Nr. 32), 12 (lfd.Nr. 33), 28 (lfd.Nr. 35) und 29 (lfd.Nr.36) warfen Junge vor Ablauf der Infektionszeit von 4 Tagen. In diesen Fällen wurden die Ausstriche von dem Schwanzblut der Jungtiere gemacht.

Tabelle 2 zeigt, daß bei 5 bis 6 Tage alten Feten schon die ersten Erythroblasten und Normoblasten im Fetalkreislauf nachgewiesen werden konnten. Allerdings waren die Erythroblasten aber nicht von den Parasiten infiziert. Erythrozyten waren dagegen im Blut nicht zu beobachten, und im Serum fanden sich auch keine Parasiten (s. Ratte Nr. 3 (lfd.Nr. 1)). Wie Ratten Nr. 30 (lfd.Nr. 6) und 9 (lfd.Nr. 11) bei der Untersuchung zeigten, wurden Parasiten erst vom 9. bis 12. Trächtigkeitstage an im Serum nachgewiesen. Im Laufe der Versuchsreihe traten die Parasiten zum ersten Male im Erythroblasten bei einem 18 Tage alten Fetus auf (Ratte Nr. 39 (lfd.Nr. 23)). Ebenfalls bei den Ratten Nr. 19 (lfd.Nr. 26) und 16 (lfd.Nr. 31) waren die Erythroblasten von Parasiten befallen (Abb. 1 bis 3). Erythrozyten fanden sich zum ersten Mal bei einem

7 Tage alten Fetus im Blut (Ratte Nr. 14 (lfd.Nr. 22)), nfizierte jugendliche Erythrozyten wurden vom 18. Trächigkeitstage an bei den Ratten Nr. 39 (lfd.Nr. 23), 19 lfd.Nr.26), 16 (lfd.Nr. 31), 10 (lfd.Nr. 32), 12 (lfd.Nr. 3) und 32 (lfd.Nr. 38) beobachtet.

Tabelle 1

Angaben über die Zahl der infizierten Feten und deren Alter sowie über den Totungstag nach der Infektion

Lfd. Nr.	Tier-Nummer	Zahl der infizierten Feten	Totungstag nach Infektion	Alter der Feten	Feten in infizierter Seite	Feten in nicht infizierter Seite	Bemerkungen
1	33	3	5. Tag	7 Tage	4	8	—
2	2	5	3. "	8-9 "	5	5	—
3	3	5	6. "	8-9 "	5	6	2 infizierte Feten mazeriert
4	6	4	5. "	8-9 "	7	6	Ratten mit 0,25 ccm Nembutal narkotisiert, zu stark, mit 0,5 Cardiazol + 0,5 Sympatol nachbehandelt
5	5	-	2. "	—	—	—	verworfen
6	30	3	5. "	9 "	6	2	—
7	1	2	3. "	9-10 "	2	3	—
8	7	-	—	—	—	—	0,25 ccm Nembutal zu stark, mit 0,5 Cardiazol + 0,5 Sympatol nachbehandelt
9	8	-	—	—	—	—	
10	22	2	4. "	10-11 "	1	5	1 Fet mazeriert
11	9	4	5. "	10-12 "	4	4	—
12	4	3	8. "	11-12 "	3	6	—
13	21	2	4. "	11-12 "	2	1	—
14	34	2	3. "	11-12 "	6	6	völlig mazeriert
15	25	3	4. "	12 "	2	1	1 Fet mazeriert
16	17	3	4. "	12-13 "	4	--	Wachstumsstillstand
17	18	3	4. "	12-13 "	3	5	—
18	38	3	4. "	14 "	4	7	—
19	13	3	4. "	15-16 "	4	5	mazeriert

Tabelle 1 (Fortsetzung)

Lfd. Nr.	Tier-Nummer	Zahl der infizierten Feten	Tötungstag nach Infektion	Alter der Feten	Feten in infizierter Seite	Feten in nicht infizierter Seite	Bemerkungen
20	11	2	4. "	16-17 "	2	--	--
21	23	3	--	--	--	--	verworfen
22	14	4	4. "	17 "	4	6	mazeriert
23	39	3	4. "	18 "	3	--	--
24	26	3	4. "	--	5	4	mazeriert
25	15	2	--	19-20 "	2	3	ausgetragen
26	19	2	4. Tag	20-21 Tage	2	2	--
27	24	3	4. "	20 "	9	2	--
28	37	3	4. "	20 "	6	4	--
29	36	2	4. "	--	9	6	mazeriert
30	35	2	-	--	--	--	Muttertier gestorben
31	16	3	-	21 "	--	--	ausgetragen
32	10	3	4. "	21 "	5	3	ausgetragen
33	12	3	-	21 "	--	--	ausgetragen
34	27	3	4. "	21 "	5	5	1 Fet mazeriert
35	28	3	-	20 "	--	--	ausgetragen
36	29	3	-	21 "	--	--	ausgetragen
37	31	3	-	--	--	--	Muttertier gestorben
38	32	3	5. "	22 "	3	1	--
39	20	1	4. "	22 "	2	--	--
		104			119	106	

Tabelle 2

Blutbefunde bei den untersuchten Feten

Untersuchte Ratten					fetaler Blutbefund				
Lfd. Nr.	Tier-Nummer	Alter der Feten	Feten in infizierter Seite	Feten in nicht infizierter Seite	Malaria-Parasiten im Serum	Erythroblasten vorhanden	Malaria-Parasiten in Erythroblasten	Erythrozyten vorhanden	Malaria-Parasiten in Erythrozyten
1	3	5-6 Tage	5	6	--	+	--	--	--
2	33	7 "	4	8	--	+	--	--	--
3	2	8-9 "	5	5	--	--	--	--	--
4	6	8-9 "	7	6	--	+	--	--	--
5	5	-- --	--	--	--	--			
6	30	9 "	6	2	+	+	--	--	--
7	1	9-10 "	2	3	--	--	--	--	--
8	7								
9	8								
10	22	10-11 "	1	5	--	+	--	--	--
11	9	10-12 "	4	4	+	+	--	--	--
12	4	11-12 "	3	6	--	+	--	--	--
13	21	11-12 "	2	1	--	+	--	--	--
14	34	11-12 "	6	6	--	--	--	--	--
15	25	12 "	2	1	--	+	--	--	--
16	17	12-13 "	4	--	--	+	--	--	--
17	14	12-13 "	3	5	--	+	--	--	--
18	38	14 "	4	7	+	+	--	--	--
19	13	15-16 "	4	5	--	+	--	--	--

Tabelle 2 (Fortsetzung)

Untersuchte Ratten					fetaler Blutbefund				
Lfd. Nr.	Tier-Nummer	Alter der Feten	Feten in infizierter Seite	Feten in nicht infizierter Seite	Malaria-Parasiten im Serum	Erythroblasten vorhanden	Malaria-Parasiten in Erythroblasten	Erythrozyten vorhanden	Malaria-Parasiten in Erythrozyten
20	11	16-17 "	2	--	+	+	--	--	--
21	23	- -	--	--	--	+	--	--	--
22	14	17 "	4	6	--	+	--	+	--
23	39	18 "	3	--	--	+	++	+	+
24	26	- -	5	4	--	+	--	+	--
25	15	19-20 Tage	2	3	--	+	--	+	--
26	19	20-21 "	2	2	--	+	+	+	+
27	24	20 "	9	2	--	+	--	+	--
28	37	20 "	6	4	--	+	--	+	--
29	36	--	9	6	--	--	--	--	--
30	35								
31	16	21 "	--	--	--	+	+	+	+
32	10	21 "	5	3	+	+	--	+	+
33	12	21 "			--	+	--	+	+
34	27	21 "	5	5	--	+	--	+	--
35	28				--	+	--	+	--
36	29								
37	31								
38	32	22 "	3	1	--	--	--	+	+
39	20	22 "	2	--	--	+	--	+	--
			119	106					

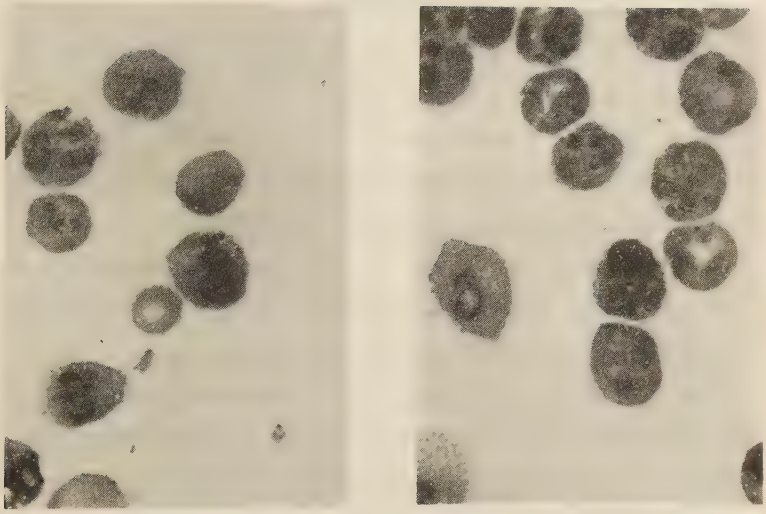

Abb. 1 und 2 Infizierter Erythroblast mit Trophozoiten und Schizonten. Fast alle foetalen Erythrozyten sind von Trophozoiten befallen. Vergr. 1600 x

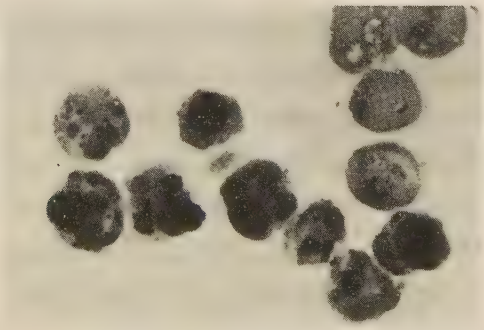

Abb. 3 Von Trophozoiten befallene und ein nicht infizierter Erythroblast. Vergr. 1600 x

III. Besprechung der Ergebnisse

Erythroblasten und Normoblasten waren im Fetalkreislauf schon beim 5 bis 6 Tage alten Fetus zu beobachten. Obwohl Parasiten und Erythroblasten vom 9. Tage der Trächtigkeit an nebeneinander im Serum nachgewiesen wurden, waren die Erythroblasten nicht infiziert. Die Beobachtung, daß Erythroblasten aber doch eine wichtige Voraussetzung für das Wachstum der Malariaparasiten sind, geht aus folgenden Ergebnissen deutlich hervor.

Eine tatsächliche Infektion mit Vermehrung von P. berghei in Erythroblasten wurde vor dem 18. Tag der Trächtigkeit nicht beobachtet. Erst mit dem Auftreten der ersten ausgereiften Erythrozyten im Blut der Feten wurden auch die ersten infizierten Erythroblasten gefunden. Von diesem Zeitpunkt an können gleichzeitig die Erythrozyten von den Parasiten infiziert sein.

Daß die Trächtigkeitsperiode bei den Ratten durchschnittlich 21 Tage betrug, darauf wurde schon hingewiesen. Der Zeitpunkt der Infizierbarkeit der Erythroblasten liegt nach meinen Versuchsergebnissen erst im letzten Drittel der Trächtigkeitsperiode. Das bedeutet mit anderen Worten, daß nach den Ergebnissen meiner Versuche eine Parasitenvermehrung im fetalen Rattenblut nicht vor dem letzten Drittel der Trächtigkeitsperiode möglich ist, selbst wenn der Malariaparasit zu einem früheren Zeitpunkt (1. und 2. Trächtigkeitsdrittel) in den Feten gelangen sollte.

Obwohl die mitgeteilten Versuche beim Menschen nicht

durchführbar sind, erscheint gerechtfertigt anzunehmen, daß beim Menschen ähnliche Verhältnisse bei der Entstehung einer congenitalen Malaria zu erwarten sind.

C. Zusammenfassung

Es wurden 104 Rattenfeten im Alter von 5 bis zu 18 Tagen nach operativer Öffnung der Bauchhaut des Muttertieres mit Plasmodium berghei infiziert. Anschliessend wurde die Bauchhaut wieder geschlossen. Nach 3 bis 5 Tagen - durchschnittlich nach 4 Tagen - p. inf. wurden die Tiere getötet und das Blut der infizierten Feten auf einen Malariabefall untersucht. Es konnte festgestellt werden, daß eine Infektion von fetalem Blut mit P. berghei erst mit dem Auftreten der ersten Erythrozyten oder kurz vorher, im letzten Stadium der Erythroblastenentwicklung vor seiner Umwandlung in den Erythrozyten möglich ist.

Diese Vorgänge finden beim Menschen in der 4. bis 7. Schwangerschaftswoche statt. Sollten Malariaparasiten vor der 4. bis 7. Schwangerschaftswoche entweder durch pathologische Plazentarveränderungen oder durch traumatische Plazentarschädigung in den Fetalkreislauf gelangen, kommt es nicht zu einer Malariavermehrung beim Feten.

D. Literatur

ASCIONE, G. und MARIOTTI, E.: Sul passagio dei parassiti malarici nel liquido cerebro-spinale e loro comportamento verso le candele porose. Riv. die Malariologia 11, 417 (1932) ref. in: Trop.Dis.Bull. 30, 487(1933)

BEEKEL, F.: Cleveland Med. Journal 9, 879 (1910)

BLACKLOCK, D.B. und GORDON, R.M.: Malaria Parasites in the Placental Blood. Ann.trop.Med.Parasit. 19, 37 (1925) ref. in: Trop.Dis.Bull. 22, 806 (1925)

BOHN: Jb. Kinderheilk. 6, (1873)

BRUCE und CHWATT, L.J.: Plasmodium berghei in the Placenta of Mice and Rats: Transmission of specific Immunity from Mother Rats to Litters. Nature 773, 353 (1954)

CLARK, H.C.: The diagnostic Value of the Placental Blood Film in Hestivo-Autumnal Malaria. J. exp. Med. 22, 427 (1915) ref. in: Trop.Dis.Bull. 7, 15 (1916)

COVELL, G.: Congenital Malaria. Trop.Dis. Bull. 47, 1147 (1950)

CRANDALL: New York Polyclinic 1, 38 (1893)

DALEAS, P. und LAVERGNE, J.: Contribution á l'étude du paludisme congenital par la pratique systématique de la réaction de Henry et l'étude des formules leucocytaires chez les accouchées et leurs nouveau-nés. Bull. Acad. Méd. 115, 345 (1936) ref. in: Trop.Dis.Bull. 33, 783 (1936)

DARLING, S.T.: Persönliche Mitteilung von CLARK (1950)

Das GUPTA: Malarial Infection in the Placenta and Transmission to the Foetus. Indian med.Gaz. 74, 397 (1939)

DINSTIL: zitiert von THOMAS

DUSCHEK: zitiert von THOMAS

ECONOMOS: Bull.Soc. Obstét. Gynéc. Paris 10, 70 (1907)

ENGLISH: Congenital Malaria. Brit. med. J. 701 (1946)

FABIANI und Mitarbeiter: C.R. Soc.Biol. 145, 1158 (1951)

FORBES, R.P.: Congenital Malaria: Report of a Case in Colorado. Amer.J.Dis.Child, 25, 130 (1923) ref. in: Trop. Dis. Bull 20, 559 (1923)

GREEN und ARMYTAGE: Besprechung an Garnhams Arbeit "The Placenta in Malaria with special Reference to Reticulo-Endothelial Immunity. Trans. roy. Sec. trop. Med. Hyg. 32, 13 (1939) ref. in: Trop.Dis. Bull. 36, 492 (1939)

HITTE, L.: Thèse de Montpellier: zitiert von BEEKEL, Cleveland Med. J. 9, 879 (1902)

KUNERT, H. und WERNER, H.: Über den Durchtritt von Plasmodium berghei durch die experimentell geschädigte Zottenhaut (Chorionektoderm), ein Beitrag zur congenitalen Malaria. Z. Tropenmed. Parasit. Stuttgart. 8, 168 (1957)

LJACHOWETSKY: Über angeborene Malaria. Zbl. Bakt., I.Abt. Orig. 103, 380 (1927) ref. in: Trop.Dis. Bull. 25, 129 (1928)

PENNATO, P.: Sulla malaria congenita. Riv. crit. Clin. med. 22, 85 (1921) ref. in: Trop.Dis. Bull. 19, 579 (1922)

PERVES, M.: Observations de paludisme héréditaire et congenital. Quelques considération sur la croissance des nourrissons dans la tribu Maka (region du Haut-Nyong, Cameroun) Rev.Sci.Med.Pharm. et Vét.Afrique francaise Libre 12, 107 (1943) ref. in: Trop.Dis.Bull.41, 354 (1944)

PEZOPOULOS, N. und CARDAMATIS, J.: Zbl. Bakt. I.Abt. Orig. 43, 181 (1907)

PIK GING HOO: Congenitale Malaria. Heta Paediatrica 28, 293 (1941) ref. in: Trop.Dis.Bull. 38, 711 (1941)

PLAYFAIR: zitiert von THOMAS

SABELLA, P.: Policlinico, Sez. med. 18, 145 (1911)

SCHRAMM: zitiert von THOMAS

SCHWETZ, J.: Considérations sur le paludisme congénital. Bull. Soc.Path.exot. 32, 44 (1939) ref. in: Trop.Dis.Bull. 36, 783 (1939)

STEINER: zitiert von BOHN

SWELLENGREBEL, N.H.: De reis der malaria-commisse van den Volkenbond naar Oost-Europa en Italie.-Nederl.Tydschr.f.Geneesk. 69. Jahr 139, 218 (1925) ref. in: Trop.Dis.Bull. 22, 393 (1925)

TANNER, N.C. und HEWLETT, R.F.L.: Congenital Malaria with Report of a Case in one of Twins. Lancet, Aug.17, 369 (1935) ref. in: Trop.Dis.Bull. 33, 264 (1936)

THOMAS, L.: Archiv der Heilunde 7, 307 (1886)

THONNARD und NEUMANN, E.: Plazentare Malariainfektion, congenitale Malaria und Impfmalaria. Münch.md.Wschr. 79, 382 (1932) ref. in: Trop.Dis.Bull. 29, 697 (1932)

Van LAWICK und van PABST: Documenta Neerlandica et Indonesica de Morbis Tropicis 1, 131 (1949) ref. in: Trop.Dis.Bull. 47, 199 (1949)

Van NITSEN, R.: Le paludisme congenital - Ibid. Ann. Soc. belge Méd. trop. 28, 413 (1932) ref. in: Trop.Dis.Bull. 46, 699 (1949)

VINCKE, J.H. und LIPS, M.: Ann.Soc. belge Méd. Trop.28, 97 (1948)

WERNER, H.: Zur Frage des plazentären Übergangs von Plasmodium berghei (congenitale Malaria) Z.Tropenmed. Parasit., Stuttgart 7, 64 (1956)

WESELKO, O.: Untersuchungen über kongenitale Malaria.
Arch.Schiffs-u. Tropenhyg. 30, 73 (1926)
ref. in: Trop.Dis.Bull. 23, 539 (1926)

WICKRAMASURIYA,G.A.W.: Some Observations on Malaria occurring in Association with Pregnancy. With Special Reference to the Trans-placental Passage of Parasites from the Maternal to the Foetal Circulation.
J.Obstet. Gynaec. Brit. Emp. 42, 816 (1935)
ref. in: Trop.Dis.Bull 33, 229 (1935)

YORKE, W. und MURGATROYD, F.: Malaria in Pregnancy.
Ann. trop.Med. Parasit. 25, 551 (1931)
ref. in: Trop.Dis.Bull. 29, 350 (1932)

Herrn Prof. Dr.W.Maassen möchte ich für die Überlassung des Themas danken.
Herrn Dr.H.Werner bin ich für die wissenschaftlichen Hinweise und die technischen Erleichterungen, die er mir ermöglichte, zu besonders großem Dank verpflichtet.

L e b e n s l a u f

Ich, Oguejiofor N w a n k w o , wurde als Sohn des Polizeibeamten Obi Igwe Nwankwo und seiner Ehefrau Nwayinkwo, geb. Eneanya am 10. Mai 1932 in Obosi/Nigeria geboren.

Von 1938 bis 1945 besuchte ich die dortige Volksschule. Anschließend bis 1951 war ich in der Government Secondary School Oweri und im St.Patricks College Calabar, wo ich das Abitur ablegte.

1952 bis 1956 besuchte ich die School of Pharmacy, Yaba in Lagos. Ich verließ die Schule mit dem Diplom Pharmacie. 1957 ging ich nach Deutschland, um Medizin zu studieren. 1957 bis 1958 studierte ich an der Universität Hamburg, 1958 bis Anfang 1959 an der Universität Gießen und im Sommersemester 1959 an der Universität Frankfurt/M. Im Winter 1959 bin ich wieder nach Gießen zurückgegangen und habe dort die ärztliche Vorprüfung abgelegt. Anschließend studierte ich an der Freien Universität Berlin und an der Justus-Liebig-Universität Gießen. Hier beendigte ich mein Staatsexamen am 12. Januar 1965.